

• 基础研究 •

超声显微技术在松质骨生物力学特性测量中的应用

余志勇, 高云, 张万强, 王德龙, 王萱
(中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

【摘要】 目的: 超声显微扫描是利用超声波的反射原理获得标本的声阻抗信息。介绍超声显微技术在松质骨生物力学测试中的应用。方法: 本文以大鼠股骨头有机玻璃包埋标本作为测试件, 通过超声显微镜扫描采集骨标本的灰度图并对其进行分析。结果: 对灰度图的计算分析可以得出骨标本的声阻抗值。结论: 该方法的应用可以更好地解释骨组织显微结构上的生物力学特性。

【关键词】 超声扫描术; 声阻抗试验; 骨和骨组织; 生物力学

Application of ultrasonic microscopy in biomechanical properties measurement of cancellous bone YU Zhi-yong, GAO Yun, ZHANG Wan-qiang, WANG De-long, WANG Xuan. Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medicine Science, Beijing 100102, China

ABSTRACT Objective: Ultrasound scanning can provide the information of acoustic impedance through the ultrasonic reflection theory. This study tries to introduce the application of the ultrasonic technique in predicting biomechanical properties of cancellous bone. **Methods:** The rat femoral head embedded in plexiglass was used as the bone specimens for ultrasound scanning and the gray scale images scanned by ultrasound microscope were collected and analyzed. **Results:** The value of acoustic impedance was calculated by analyzing the gray scale image. **Conclusion:** The application of ultrasonic microscopy can show more value about the microstructure of biomechanical properties of bone tissue.

Key words Ultrasonography; Acoustic impedance tests; Bone and bones; Biomechanics

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(7): 523-524 www.zggszz.com

医学领域中应用超声较为广泛和成熟的是内脏系统及中耳系统, 而在骨科中的应用特别是用于骨质疏松的诊断是近几年才发展起来的, 这与超声的特性密切相关。以往的研究认为, 该值能更好的说明骨组织的显微结构力学特征。本文介绍的就是利用超声显微技术测量骨组织切片生物力学特性的一种方法。

1 实验材料

1.1 实验仪器 ①清华大学生产的 Mut-2 型多功能超声显微镜; ②本院生物力学室自制医用圆骨锯。

1.2 标本材料与制备 ①利用有机玻璃包埋处理骨组织标本(本试验以股骨头作为包埋材料为例)。取下股骨上端 1/3 之后, 除去周围软组织, 用 40% 乙醇固定保存, 于 40%、70%、80%、95%、100% 乙醇系列脱水各 2 次, 每次 24 h, 脱水过程在 4℃ 下进行。然后甲基丙烯酸甲酯混合液高温下包埋, 包埋要求骨组织周围无气泡, 硬度与骨组织相当。②包埋完成后用自制圆锯将包埋块沿股骨颈冠状轴锯成 0.2 cm 薄片, 磨片后骨组织会直接暴露于骨磨片表面, 且厚度在 0.15 cm 左右, 此时骨磨片在水中方不至于变形, 可用于扫描。

2 实验方法

2.1 观测对象 直接观察指标为灰度图(见图 1、2), 为超声

显微镜的计算机成像系统在扫描时同步采得。

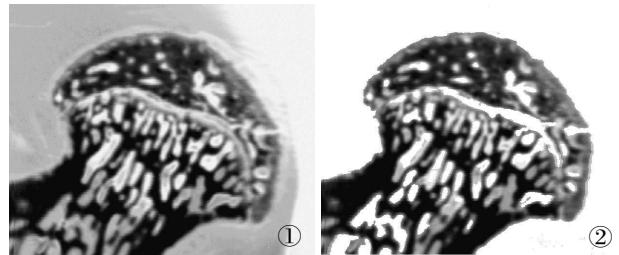


图 1 正常大鼠股骨头灰度图 图 2 剔出包埋材料后的灰度图
Fig.1 Gray scale image of normal femoral head of rat **Fig.2** Gray scale image after removing embedded material

2.2 检测方法 试验前保证测试槽的清洁, 缓慢注入双蒸水, 尽量减少水中出现气泡, 静置 1 h, 用 5 ml 注射器折弯针头在水下顺切片表面横向注入水流驱除气泡, 并以同样方法去除探头凹陷内的气泡, 以免气泡附着于标本或探头凹陷内干扰声波的反射, 影响实验数据。保持水温 20~25℃, 在测试槽底座预先固定一石英载玻片, 用以承载骨标本。放置标本后, 调整超声显微镜探头位置与高度, 设置适当参数后, 使骨片回波信号在仪器动态范围之内。测定骨组织标本前, 先测量骨包埋材料的平均灰度, 然后再逐片扫描骨组织标本。

2.3 图像处理 超声扫描完成后, 计算机成像系统显示

骨标本的灰度图(见图 1)。按所测包埋材料的平均灰度值剔出非骨组织部分(见图 2),按照具体实验关心的部位对灰度图进行处理。

2.4 数据分析方法 用本实验室自编软件计算出选取区域内的像素点及每一像素点的灰度值,由此灰度值按照下列公式可推导出该点的声阻抗值,然后求出各点声阻抗的平均值,进行统计学分析。

计算公式:

$$\left. \begin{aligned} V_B &= (255 - g_B)(2 - 0) / 255 \\ V_Q &= (255 - g_Q)(2 - 0) / 255 \end{aligned} \right\} (1)$$

$$\left. \begin{aligned} R_B &= (Z_B - Z_{水}) / (Z_B + Z_0) \\ R_Q &= (Z_Q - Z_{水}) / (Z_Q + Z_0) \end{aligned} \right\} (2)$$

$$R_B / R_Q = V_B / V_Q \quad (3)$$

其中 R_B 为水-骨标本界面的反射系数, R_Q 为水-石英界面的反射系数, g 为超声扫描所得灰度值, g_B 为骨标本灰度值, g_Q 为石英灰度值, $Z_{水}$ 为水的声波阻抗, Z_0 为石英的声阻抗, $Z_{水} = 1.059 \times 10^3 \text{ rayl}$, $Z_0 = 13.1 \times 10^3 \text{ rayl}$ 。 $g_0 = 4$, 故 $V_Q = 251 \times 2 / 255$, 由(2)可知, $R_Q = 0.793$; 再由(1)(3)可得到: $R_B / R_Q = (255 - g_B) / 251$, 故:

$$R_B = 0.793(255 - g_B) / 251$$

$$Z_B = (1 + R_B) Z_Q / (1 - R_Q) = 1.509 \times 10^6 \times (1 + R_B) / (1 - R_B)$$

此时 Z 值即为扫描骨磨片松质骨的平均声阻抗值。

数据分析说明骨小梁的灰度值不同,相对应的声阻抗值也不同,每一骨磨片都可由此计算出声阻抗水平,作为松质骨生物力学特性的参数。

3 讨论

超声显微扫描是基于超声脉冲反射理论的试验操作,声阻抗是用来表示介质传播超声波能力的一个重要的物理量,不同的声阻抗对超声波的反射不同。骨骼主要由表面的骨皮质和内部大量的海绵状松质骨组成,中央充填髓质。成年人骨有机质和无机质的比例约为 3:7,有机质(主要为骨胶原纤维束和黏多糖蛋白)构成骨的支架,无机质(主要是碱性磷酸钙)沉淀在支架上使骨坚硬挺实。所以骨是一种不均一的声学多相性材料,骨的物理特性是由其材料特性和结构特性决定的^[1],材料特性并不依赖于几何特征及构造,而结构特性却依赖于几何特征及构造,在体内骨小梁按照股所承受的压力和张力的方向排列。

这些材料特性和几何特性就直接决定骨组织的不同的声阻抗值,当骨质疏松发生时,骨内无机物和有机物的比例、骨

小梁的内部结构均发生变化,钙磷也会有所丢失,试验证实^[2],骨质疏松患者的平均声阻抗明显低于健康组,其差异具显著性($P = 0.004$),说明骨组织平均声阻抗与骨质疏松的程度呈反相关,根据声阻抗的大小,可以评价松质骨状况及骨质疏松的程度。

在以往的一些应用超声测量骨矿密度的方法,如 DXA 等只反映骨骼中的矿物质含量。即“量”的因素,而不能反映“质”的因素,冯宇等^[3]认为利用超声诊断仪所得参数,如:定量超声宽带衰减(BUA)、超声速度(SOS)及硬度指数或强度指数(STI),可同时反映骨的密度、微结构、弹性和脆性。通常认为 BUA 取决于骨的密度及微结构(骨小梁数目、连接方式及走向),SOS 主要与骨的密度和弹性有关。而他得安等^[2]的观点则不完全相同,他认为现有的超声诊断仪所得参数仍然不能较好的反映骨的微结构,至少是没有考虑散射和频散,其显著的后果是出现了大量的漏诊和误诊,从而提出超声背散射系统的理论,并据此再次证实声阻抗与骨质疏松的关系。因此,声阻抗能从何种水平上反映松质骨的骨质疏松程度尚需进一步研究。

在具体的骨质疏松实验中,超声显微测量声阻抗的方法的某些优点是可以被肯定的:①所得声阻抗值可与其他参数横向对比并分析其相关性,如骨密度,对侧股骨的三点弯和压缩试验参数等。②实验标本可同时用于其他指标的检测,如四环素的荧光标记,对于小样本来说可以有效的利用资源。③一般来说,在三点弯或压缩试验中,标本只能被破坏,而超声扫描测试过程不损坏骨标本的组织结构,这种非破坏性测试可以对骨标本进行多次重复测试,用重复测试的平均值来计算,能减少测量误差,所以相对于宏观力学测试来讲,超声扫描有较高的精确性,这个优势在小样本试验及大鼠等小型实验动物骨标本的测试中更为明显。

综上所述,本文所提供的是一种新的测定松质骨生物力学的方法,主要通过超声显微扫描得出标本的声阻抗值。该方法的应用能更好的阐释骨质疏松在显微结构上的力学改变,为以后的实验研究提供更充分的客观依据和评价体系。

参考文献

- 1 他得安,王威琪,汪源源,等.超声背散射系数评价松质骨状况的可行性研究.航天医学与医学工程,2005,18(5):365-369.
- 2 他得安,王威琪,汪源源,等.基于超声背散射信号分析松质骨中的声阻抗.中国生物医学工程学报,2007,26(4):487-492.
- 3 冯宇,周兆英.松质骨定量超声检测评估骨质疏松症.医疗卫生装备,2002,23(3):5-8.

(收稿日期:2008-03-26 本文编辑:王玉蔓)